

金沢大学がん進展制御研究所共同研究成果報告書

平成24年4月27日提出

対象研究テーマ：in vitro がん幹細胞モデル系の開発に関する研究

研究期間：2011年4月1日～2012年3月31日

研究題目：がん幹細胞の脂質代謝における Rb がん抑制遺伝子と SREBP-1 遺伝子の関係

研究代表者：筑波大学医学医療系 教授 島野 仁

研究成果の概要：

SREBP の発がん・悪性進展における役割を探索するために、SREBP を欠損する様々な発がんマウスの樹立を目指す。共同研究期間中に、我々が本来着目していた Rb と SREBP-1,2 の転写・プロセッシングにおける関係に加え、変異 p53 が SREBP-2 と直接に結合し、その転写活性を促進するという報告がなされた。mTORC1 と SREBP-1,2 との関係も 2010 年に報告があり、がん化シグナルの標的としての SREBP の役割に益々注目が集まっている。クリーニングを終えた REBP-1 KO マウスと Rb+/+; p53+/+ マウスとの交配を開始した。PTENflox, Rbflox マウスとの交配も間もなく開始する。また、SREBP-1 KO 細胞あるいは SREBP-2 ノックダウン細胞において様々ながん化シグナルを亢進させ、その帰結（トランスフォーム、がん幹細胞様の挙動、糖代謝、脂質代謝）を観察している。現時点において、結果の観察には行き着いていないが、研究計画の遂行に必要なマテリアルは着々と揃ってきた。

研究分野：内分泌学、代謝学

キーワード：SREBP、Rb

1. 研究開始当初の背景

共同研究者の金沢大学がん進展制御研究所の高橋らは、Rb がん抑制遺伝子の不活性化が Ras プロトがん遺伝子産物の膜輸送と活性化を制御する経路を探索し、Rb による E2F 依存的な SREBP ファミリー遺伝子発現調節機構を発見した (Shamma et al., Cancer Cell 15: 255-269, 2009)。Rb が不活性化すると、SREBP-1,2 の転写制御を介してあるいは直接に E2F-1,3 によって多数のイソプレニル化関連酵素の発現が誘導されるために、Ras 蛋白質の成熟と活性化が加速される。この経路によって、Rb 不活性化は、腫瘍の分化能や転移・浸潤能を制御、また、細胞によっては、逆に細胞をがん化から守る生体防御機構を誘導する。更に、この経路は、Ras のみならず、様々な CAAX 蛋白質の活性制御にも関わる。一方、Rb と SREBP ファミリーの関係は、蛋白質イソプレニル化のみならず、Fatty acid synthase など、脂質代謝やがんの悪性形質の生成において重要な役割をはたす遺伝子の制御にも関わると思われる。実際、Rb ヘテロ型マウスには、脂肪肝が生じる。また、Fatty acid synthase 阻害剤は、臨床がんへの効果が強く期待されている化合物である。がんの代謝異常には、ふたつある。よく知られている Warburg 効果は、解糖系の亢進で

あり、近年、p53 がん抑制遺伝子がこの系を制御することが知られつつある。もう一つは、lipogenic phenotype と呼ばれる脂質代謝の異常である。これは、脂質二重膜を構成する脂質の合成の亢進がその本態であり、盛んな細胞分裂に追いつくための膜脂質合成亢進、あるいは、膜脂質によって制御される PI3K/AKT シグナル等の制御に関与すると思われる。実際、高橋らは、Rb 不活性化が、AKT シグナルを亢進させることを見出し、我々との共同研究によって、その機構を探索する。そして、Rb が腫瘍の lipogenic phenotype を制御する可能性を探索する。

2. 研究の目的

本研究では、Rb と SREBP ファミリー遺伝子を同時欠損する複合変異マウスを作製、Rb 不活性化によって生じる表現型（胎性致死、分化異常、細胞周期異常、細胞死異常、細胞老化、DNA 損傷応答、エピジェネティック異常、腫瘍、転移、薬剤耐性、がん幹細胞）の生成において SREBP ファミリー遺伝子の果たす役割を遺伝学的に確立する。そして、SREBP ファミリーに依存した Rb の新規機能を同定する。また、Rb 不活性化によって生じる脂質あるいはメタボローム異常を網羅的に探索する。SREBP を含め、Rb

不活性化によって機能亢進する転写因子や酵素を見出し、その阻害剤が Rb 不活性化腫瘍の挙動に与える影響を探索する。

3. 研究の方法

Rb ヘテロ欠損マウスと SREBP-1 ヘテロ欠損マウスと交配し、これによって得られるダブルヘテロ型マウスどうしを更に交配し、様々な遺伝型のマウスを得る。Rb ホモ型は、完全に胎性致死、SREBP-1 ホモ型は、部分的に胎性致死であるので、理論的には、Rb+/-; SREBP-1-/-マウスを得ることができる。このマウスに生じる下垂体腺瘤と甲状腺 C 細胞腺腫の組織像や腫瘍細胞の性質を解析する。また、timed pregnancy によって、胎生 12.5 日付近の胚を得、これを観察する。これまでに、高橋や米国 MIT の Tyler Jacks 博士らによって、Rb ホモ型欠損と同時に様々な関連遺伝子を欠損する複合変異マウスに生じる様々な表現型が、非常に詳細に調べられており、これらの知見との対比に於いて、Rb ホモ型表現型に SREBP-1 同時欠損が与える影響を解釈する。

4. 研究成果

SREBP-1 KO マウスを筑波大学から金沢大学に輸送した。マウスの観察を SPF 環境下で行うために、学際科学実験センター実験動物研究施設において、浅野雅秀教授の協力の下、SREBP-1 KO マウスのクリーニングを行った。所期の SPF 化マウスを得た後、これを同上半角間分室に移動。Rb+/-; p53+/-マウスとの交配を開始した。共同研究期間中に我々が着目していた Rb と SREBP-1,2 のプロセッシングの関係に加え、変異 p53 が SREBP-2 と直接に結合し、その転写活性を促進するという報告がなされた。mTORC1 と SREBP-1,2 との関係も 2010 年に報告があり、がん化シグナルの標的としての SREBP の役割に益々注目が集まっている。現在、SREBP-1 KO 細胞あるいは SREBP-2 ノックダウン細胞において様々ながん化シグナルを亢進させ、その帰結（トランスフォーム、がん幹細胞様の挙動、糖代謝、脂質代謝）を観察している。結果の観察には行き着いていないが、研究計画の遂行に必要なマテリアルは着々と揃ってきた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1. Kumadaki S, Karasawa T, Matsuzaka T, Ema M, Nakagawa Y, Nakakuki M, Saito R, Yahagi N, Iwasaki H, Sone H, Takekoshi K, Yatoh S, Kobayashi K, Takahashi A,

Suzuki H, Takahashi S, Yamada N, Shimano H. Inhibition of ubiquitin ligase F-box and WD repeat domain-containing 7 α (Fbw7 α) causes hepatosteatosis through Krüppel-like factor 5 (KLF5)/peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2) pathway but not SREBP-1c protein in mice. *J Biol Chem*. 286(47):40835-46, 2011.

2. Saito R, Matsuzaka T, Karasawa T, Sekiya M, Okada N, Igarashi M, Matsumori R, Ishii K, Nakagawa Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Sone H, Suzuki H, Yahagi N, Yamada N, Shimano H. Macrophage Elovl6 deficiency ameliorates foam cell formation and reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 31(9):1973-9, 2011.

3. Karasawa T, Takahashi A, Saito R, Sekiya M, Igarashi M, Iwasaki H, Miyahara S, Koyasu S, Nakagawa Y, Ishii K, Matsuzaka T, Kobayashi K, Yahagi N, Takekoshi K, Sone H, Yatoh S, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. Sterol regulatory element-binding protein-1 determines plasma remnant lipoproteins and accelerates atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 31(8):1788-95, 2011.

4. Amemiya-Kudo M, Oka J, Takeuchi Y, Okazaki H, Yamamoto T, Yahagi N, Matsuzaka K, Okazaki S, Osuga J, Yamada N, Murase T, Shimano H. Suppression of the pancreatic duodenal homeodomain transcription factor-1 (Pdx-1) promoter by sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c). *J Biol Chem*. 286(32):27902-14, 2011.

5. Iwasaki H, Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Ishii KA, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. TFE3 regulates muscle metabolic gene expression, increases glycogen stores, and enhances insulin sensitivity in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 302(7): E896 – 902, 2012.

6. Heianza Y, Hara S, Arase Y, Saito K, Fujiwara K, Tsuji H, Kodama S, Hsieh SD,

Mori Y, Shimano H, Yamada N, Kosaka K, Sone H. HbA1c 5.7-6.4% and impaired fasting plasma glucose for diagnosis of prediabetes and risk of progression to diabetes in Japan (TOPICS 3): a longitudinal cohort study. *Lancet*. 378 (9786):147-55.

〔学会発表〕（計 5 件）

1. 島野 仁 動脈硬化戦略における脂質管理の新しい視点：臓器脂質の量的制御と質的制御 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会（札幌）2011 年 5 月 20 日

2. 島野 仁 飢餓応答肝臓特異的転写因子 CREBH の糖脂質代謝制御 第 84 回日本内分泌学会年次学術集会（神戸）2011 年 4 月 21 日

3. Rie Matsumori, Takashi Matsuzaka, Tsuyoshi Yamazaki, Haruna Shinozaki, Daida Hiroyuki, Yukio Nagasaki, Hitoshi Shimano. A novel bile salt sequestering agent_”PEGylated and quaternized polyamine nanogel” reduces VLDL and LDL cholesterol, raises HDL cholesterol, and prevents atherosclerosis in mice. 第 84 回米国心臓協会学術集会（AHA Scientific Sessions 2011）フロリダ

4. Rie Matsumori, Takashi Matsuzaka, Tsuyoshi Yamazaki, Haruna Shinozaki, Hiroyuki Daida, Yukio Nagasaki, Hitoshi Shimano. PEGylated and quaternized polyamine nanogel” a novel bile salt sequestering agent, ameliorates dyslipidemia through reduction of VLDL and LDL cholesterol, and induction of HDL cholesterol. 第 43 回日本動脈硬化学会学術集会（ロイトン札幌）

5. Haruna Shinozaki, Takashi Matsuzaka, Rie Matsumori, Tsuyoshi Yamazaki, Yukio Nagasaki, Hitoshi Shimano. A novel bile salt sequestering agent_”PEGylated and quaternized polyamine nanogel” reduces VLDL and LDL cholesterol, raises HDL cholesterol, and prevents atherosclerosis in mice. 第 34 回日本分子生物学会年会（パシフィコ横浜）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

筑波大学医学医療系・教授 島野 仁

(2) 研究分担者

筑波大学医学医療系・准教授 松坂 賢

(3) 本研究所担当者

腫瘍分子生物学・教授 高橋智聡